©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	Vol. 20	Fasc. 3—4	333—348	30. 9. 1980

Auslösung von Blattbewegungen bei *Mimosa* und von Krümmungen von *Lupinus*-Hypokotylen, gedeutet durch Freisetzung von Erregungssubstanz und Auxin

Von

Karl UMRATH und Irmtraud THALER *)

Mit 2 Abbildungen

Eingegangen am 14. Januar 1980

Key words: excitatory substance, leaf movements, bending of hypocotyles, auxin; *Mimosa, Lupinus*

Summary

Initiation of leaf movements in *Mimosa* and of bendings in *Lupinus* hypocotyles, interpreted by liberation of the excitatory substance and of auxin

1. 28 substances were tested for their ability to initiate leaf movements in cut shoots of *Mimosa pudica* as well as to liberate transmitter substances from animal tissues. Mostly such effects were to be expected for these substances. All the substances were effective on *Mimosa*, in 6 cases 1—3 mM were effective, only in 5 cases over 30 mM were needed. It is suggested that these substances liberate the excitatory substance of *Mimosaceae*, which induces leaf movements in about 0,000005 mM concentration.

2. Growth bendings induced in *Lupinus albus* hypocotyles by 27 substances applied unilaterally in lanoline-water-paste were investigated. With the exception of tryptamine and glycine, all the substances in concentrations of 15—450 mM induced positive bendings (i. e. towards the side of the applied paste). Obviously they liberated the excitatory substance, which, in suboptimal auxin concentrations, inhibits growth. This concept is strengthened by the high negative correlation between the logarithms of the concentrations effective on *Mimosa* and the percentage of positive bendings of *Lupinus* hypocotyles at 15 mM concentration of the substances in the pastes (correlation coefficient —0,7). Tryptamine, 15 and 75 mM in paste, induced negative bendings, probably because tryptamine is inverted in the plant to 3-indolylacetic acid. In higher concentrations the bendings become positive suggesting that the liberated excitatory substance is prevailing.

*) Anschrift der Verfasser: p. adr. Prof. Dr. Irmtraud THALER, Institut für Pflanzenphysiologie, Universität Graz, A-8010 Graz, Schubertstraße 51.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

3. Increasing concentrations of 13 substances diminish the positive bendings of hypocotyles, while upright and negatively bended hypocotyles appear, especially on the second day. Glycine causes mostly negative bendings. The tendency to negative bending suggests the liberation of 3-indolylacetic acid. Substances most effective in this respect have a terminal acidic group as has 3-indolylacetic acid, but are otherwise contrary with view to electrical charge and hydrophily.

Zusammenfassung

1. An 28 Substanzen wurde untersucht, in welchen Konzentrationen sie Blattbewegungen an abgeschnittenen Sprossen von *Mimosa pudica* auslösen und in welchen Konzentrationen sie tierische Überträgersubstanzen freisetzen. Großenteils handelte es sich um Substanzen, bei denen solche Wirkungen zu erwarten waren. An *Mimosa* erwiesen sich alle als wirksam, 6 in Konzentrationen von 1—3 mM und nur 5 bei Konzentrationen über 30 mM. Es wird angenommen, daß die geprüften Substanzen die Erregungssubstanz der Mimosaceen freisetzen, die schon in 0,000005 mM Lösung Blattbewegungen bei Mimosa pudica auslöst.

2. 27 dieser Substanzen wurden, in Lanolin-Wasser-Paste verrieben, einseitig auf *Lupinus albus*-Hypokotyle aufgetragen. Mit Ausnahme von Tryptamin und Glycin führten alle Substanzen im Bereich von 15—450 mM zu positiven Krümmungen (d. i. zur Seite der Paste hin). Dies wird auf Freisetzung von Erregungssubstanz zurückgeführt, die nach älteren Befunden bei unteroptimaler Auxinkonzentration zu Wachstumshemmung führt. Diese Auffassung wird durch die hohe Korrelation gestützt, die zwischen den Logarithmen der an *Mimosa* wirksamen Konzentrationen und den Prozentsätzen positiver Krümmungen von *Lupinus*-Hypokotylen bei 15 mM Paste besteht; Korrelationskoeffizient —0,7. Durch 15—75 mM Tryptamin ausgelöste negative Krümmungen beruhen wahrscheinlich auf einer Umwandlung dieses Stoffes in der Pflanze in 3-Indolylessigsäure. Erst bei 275 und 450 mM führte auch Tryptamin, offenbar durch Überwiegen der freigesetzten Erregungssubstanz, zu positiven Krümmungen.

3. Bei 13 der an *Lupinus*-Hypokotylen geprüften Substanzen führten höhere Konzentrationen zu einer Abnahme der positiven Krümmungen und es traten, besonders am 2. Tag nach Anbringen der Paste, neben geraden auch negativ gekrümmte Keimlinge auf. Diese Erscheinung wird mit zusätzlicher Freisetzung von 3-Indolylessigsäure erklärt. Glycin bewirkt vielfach negative Krümmungen. Die Tendenz zu negativen Krümmungen ist bei Substanzen besonders ausgeprägt, die wie die 3-Indolylessigsäure eine endständige Säuregruppe haben, sonst aber bezüglich elektrischer Ladung und Hydrophilie zu ihr vorwiegend gegensätzlich gebaut sind.

Einleitung

In letzter Zeit haben Umrath, Thaler & Steiner 1978 gefunden, daß viele Substanzen, die bei Tieren Überträgersubstanzen freisetzen, bei *Mimosa* Bewegungsreaktionen auslösen und die Spaltöffnungen verengen. Diese Befunde erklären die Autoren durch Freisetzung von Erregungssubstanz.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Wir haben nunmehr eine größere Zahl freisetzender Substanzen geprüft. Im Test an *Mimosa* wird nur Erregnungssubstanz erfaßt. Die Verengung der Spaltöffnungen ist hauptsächlich durch freigesetzte Erregungssubstanz bedingt, wird aber durch Auxin merklich antagonisiert (UMRATH, THALER & STEINER 1978, 1979). An *Lupinus albus*-Hypokotylen haben wir Wachstumskrümmungen untersucht, die durch einseitige Einwirkung der freisetzenden Substanzen in Lanolin-Wasser-Paste bedingt waren. Freigesetzte Erregungssubstanz bewirkte Wachstumshemmung und positive Krümmung, eventuell freigesetztes Auxin Wachstumsförderung und negative Krümmung.

Methode

Samen von *Lupinus albus* wurden auf feuchtem Filtrierpapier im Dunkeln angekeimt. Sobald die Wurzeln 1—2 cm lang waren, wurden die Keimpflanzen in Töpfe mit einem Gemisch aus Gartenerde und Sand eingesetzt und dunkel gestellt, bis die Hypokotyle 1—2 cm aus der Erde ragten. Noch anhaftende Samenschalen wurden entfernt. Dann wurde die freisetzende Substanz enthaltende Lanolin-Paste einseitig unterhalb der Ansatzstelle der Keimblätter auf einem etwa 6 mm langen Stück des Hypokotyls aufgetragen. Die Pasten wurden durch Verreiben gleicher Gewichtsteile Lanolin und destillierten Wassers sowie der für den jeweiligen Versuch benötigten Menge der freisetzenden Substanz zu einer homogenen weißlichen Masse hergestellt. Für die freisetzenden Substanzen sind die mM (millimolaren) Konzentrationen in den Pasten angegeben.

Mit jeder Paste wurden 5—10 Hypokotyle einseitig bestrichen und die auftretenden Krümmungen nach 1 und 2 Tagen beobachtet. Die Krümmungen nach der Seite der Paste (sie werden als positive Krümmungen bezeichnet) betrugen bei den meisten Substanzen bis zu 20°. Nur bei einzelnen Substanzen kamen, meist nur bei höheren Konzentrationen, wesentlich stärkere positive Krümmungen vor. Diese waren durch Zellschädigungen bedingt, die sich in einer Braunverfärbung unter der Paste und mikroskopisch an Querschnitten feststellen ließen. Negative Krümmungen, von der Seite der Paste weg, kamen bei geringen Konzentrationen von 3-Indolylessigsäure und bei höheren Konzentrationen einiger anderer Substanzen vor.

Die Zahl der positiven Krümmungen, vermindert um die der negativen, bezogen auf die Gesamtzahl der in einer Ermittlung verwendeten Pflanzen, ergibt den Prozentsatz positiver Reaktionen. In den Spalten 1—4 der Tabelle 1 ist von den Ermittlungen des 1. und 2. Tages jeweils der höhere Wert eingesetzt. In Tabelle 2 sind für einige Substanzen die am 1. und am 2. Tag beobachtete Werte gesondert eingetragen. Es sind dies Substanzen, bei denen mit zunehmender Konzentration die positiven Krümmungen abnahmen oder negative Krümmungen, besonders am 2. Tag, auftraten.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Kontrollpasten mit Lanolin und Wasser wurden in 13 Versuchen angewandt. Die Ermittlungen ergaben in 4 Versuchen negative Werte, maximal −43%, in 2 Versuchen 0 und in 7 Versuchen positive Werte, maximal +37%. Der Mittelwert und seine mittlere Abweichung sind 4,3%±7,6%. Bei Annahme einer Normalverteilung mit diesen Werten würden knapp 70% der Einzelwerte zwischen +11,9 und −3,5% liegen. Bei unseren Versuchen mit 5—10 Pflanzen bewirkt schon eine gekrümmte Pflanze 10% bis 20% Abweichung von 0. Es ist anzunehmen, daß zufällige Abweichungen der in unseren Versuchen ermittelten Werte sich meist in diesen Grenzen halten und nur sehr selten 40% erreichen. Mit Glukose, meist 450 mM, einmal 150 mM, haben wir 4 Versuche ausgeführt, die 0, 20, 32 und 33% positive Krümmungen ergaben. Da in Tabelle 1 für die allermeisten Substanzen Zahlen über 40% angegeben sind und negative Zahlen nur bei Glycin und bei geringen Tryptamin-Konzentrationen vorkommen, ist anzunehmen, daß unsere Zahlen durch zufällige Abweichungen wenig beeinflußt sind.

Für die Versuche über die Bewegungsauslösung bei *Mimosa pudica* wurden Sprosse mit einem Skalpell unterhalb des 4. oder 5. Blattes abgeschnitten; unter Wasser wurde dann der unterste Teil abgeschnitten und die Sprosse mit 3—4 Blättern wurden an Stativen so befestigt, daß ihre Schnittflächen in Schälchen mit Wasser tauchten. Wenn die Blätter wieder ausgebreitet waren, wurde das Wasser mit einer Pipette abgesaugt und durch die zu prüfende Lösung ersetzt. Die nach einigen Minuten bis zu einer halben Stunde eintretenden Blattbewegungen wurden beobachtet. Durch Verwendung verschieden konzentrierter Lösungen wurde die Grenze sicherer Wirksamkeit ermittelt.

Wegen der Freisetzung von Acetylcholin in der Cornea der Augen junger Meerschweinchen und in Extrakten der Cornea von Kaninchenaugen verweisen wir auf Umrath, Thaler & Steiner 1978 und wegen der Freisetzung von γ-Guanidinobuttersäure in Stammhirnextrakten auf Umrath 1979a: 8.

Ergebnisse und ihre Besprechung

An der Spitze der Tabelle 1 sind einige Thymoleptica angeführt (Nr. 1—6), zuerst Mianserin mit 4, dann Amitriptylin und Imipramin mit je 3 kondensierten Ringen. Alle sind an *Mimosa* (Spalte 5) gleich und sehr gut wirksam. An Hypokotylen von *Lupinus* (Spalte 1—4) wirken alle sehr gut. Das alles deutet auf Freisetzung von Erregungssubstanz durch diese 3 Thymoleptika.

Bei Mianserin nehmen mit zunehmender Konzentration die positiven Krümmungen eher ab als zu und, wie Tabelle 2 zeigt, können sie bei höheren Konzentrationen besonders am 2. Tag sehr gering sein. Das deutet darauf hin, daß Mianserin nicht nur Erregungssubstanz, sondern auch 3-Indolylessigsäure freisetzt.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 1

Wirksamkeit von 29 Erregungssubstanz freisetzenden Substanzen. Spalte 1—4: Prozentsatz positiver Krümmungen von *Lupinus*-Hypokotylen nach einseitiger Applikation der in Lanolinpaste in den angegebenen Konzentrationen dispergierten Substanzen. Spalte 5 gibt die Konzentration der Substanzen an, die nötig ist, um an *Mimosa* Blattbewegungen auszulösen, Spalte 6, um Acetylcholin in der Cornea junger lebender Meerschweinchen freizusetzen, Spalte 7, um Acetylcholin in Cornea-Extrakt von Kaninchen und Spalte 8, um γ-Guanidinobuttersäure (GBA) im Extrakt aus Stammhirn freizusetzen

	Freisetzende Substanz	1	2	3	4	5	6	7	8
		Lupinus-Hypokotyle				Mimosa	Freisetzung von		
		% positive Krümmungen durch Paste mit ...mM Substanz				Bewegungsauslösung	Acetylcholin		GBA
							in der Cornea	in Corneaextrakt	im Stammhirnextrakt
		15	75	275	450	bei mM	durch mM	durch mM	durch mM
1	Mianserin	80	33		62	2	>20		
2	Amitriptylin	50	100			2	5	0,003	
3	Imipramin	84				2	40	0,02	
4	N - 1157	63	86			3	2	0.03	
5	Nialamid	57+	80+			50	100	1	
6	Iproniazid	63	60+		100+	>30			
7	Reserpin		86		78	2	2		0,08
8	3-Indolylessigsäure	100	67		100	1	3	0,1	0,03
9	α-Methyltryptamin		72	83	100+	6	10		0,002
10	5-Hydroxytryptamin-creatininsulfat	43	75	30		10	0,25	0,03	0,0000025
11	5-Hydroxytryptamin-hydrogenmaleinat		67	89			1		
12	Tryptamin	-17	-35	100	76	30	1,5	0,005	0,00025
13	5-Methoxy-N,N-dimethyltryptamin	70	78		100+	30	0,3		0,00001
14	2,3,5-Trijodbenzoesäure	100+	100+			5	0,5	0,005	0,0000003
15	Gentisinsaures Na	25	43		80	50	200	30	0,5
16	L-Mandelsaures Na	86	50		75+	20	0,02	0,00002	0,000002
17	D,L-4-Hydroxy-3-methoxymandelsaures Na	71	13		57+	30	2	0,3	0,1
18	Citronensaures Na	90	50		60	10	1	0,1	0,02
19	L-Glutaminsaures Na	88	63		57	4*	3		20
20	L-α-Aminobuttersäure	57	60	67	67	20	50	0,03	0,0000001
21	D,L-ß-Aminobuttersäure					25	100	0,5	0,000003
22	γ-Aminobuttersäure					30			
23	α-Aminoisobuttersäure	20	43		43	200	100	3	0,0001
24	L-Cysteinsaures Na	83	80		44	10	1	0,0003	0,00001
25	α-Alanin	56	44		48	10*	100	3	0,03
26	ß-Alanin	86	29		29	10	200	10	0,01
27	Serin	40	86		10	6*	200	3	0,4
28	Glycin	- 8	73		-30	500*	20		0,04
29	Taurin	63	57		60	30	200		0,03

* = Wert aus FITTING 1930; + = Keimling geschädigt.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Das Thymoleptikum N-1157 (N, 3, 4, 5 Trimethoxybenzoylheptamethylen-Imin, Nr. 4 in Tabelle 1) hat einen Ring und eine lange Seitenkette. Es ist an *Mimosa* fast ebenso wirksam wie die eben besprochenen und auch seine Wirksamkeit an *Lupinus*-Hypokotylen ist gut.

Die zwei letzten Thymoleptika in Tabelle 1, sind Nialamid mit je einem Ring an beiden Enden einer längeren Kette und Iproniazid mit einen Ring. Sie sind an *Mimosa* nur schwach wirksam. Iproniazid ist so wenig wasserlöslich, daß an *Mimosa* nur die Nichtwirksamkeit der höchstmöglichen Konzentration festgestellt werden konnte. Beide Stoffe sind giftig. An *Lupinus*-Hypokotylen bewirkten sie schon in mittleren Konzentrationen deutliche Braunverfärbungen und Zellschädigungen, so daß aus den durch sie bewirkten positiven Krümmungen nicht auf Freisetzung von Erregungssubstanz geschlossen werden kann.

Reserpin (Nr. 7 in Tabelle 1) hat 6 Ringe, davon 5 kondensierte. Es löst schon in sehr geringer Konzentration Blattbewegungen von *Mimosa* aus. Da Reserpin in Wasser sehr schwer löslich ist, wurde es 1 : 1000 in 5% Ascorbinsäure gelöst getestet und auch noch etwas weiter mit Wasser verdünnt. 5% Ascorbinsäure ist an *Mimosa* unwirksam. An *Lupinus*-Keimpflanzen bewirkte schon 30 mM Reserpin-Paste 33% positive Krümmungen, die, wie Tabelle 1 (Spalte 2 und 4) zeigt, bei höheren Konzentrationen zunahmen.

3-Indolylessigsäure (Nr. 8 in Tabelle 1, Strukturformel s. Abb. 1) erwies sich unter den von uns untersuchten Substanzen an *Mimosa pudica* am wirksamsten (Spalte 5). Sie hat an Hypokotylen von Lupinus in allen in Tabelle 1, Spalte 1, 2 und 4 ,verzeichneten Konzentrationen hohe Prozentsätze positiver Krümmungen bewirkt. Schon in 1 mM-Paste erzeugte sie negative Krümmungen durch Wachstumsförderung. Von 6 Keimlingen waren am 1. und am 2. Tag alle stark negativ gebogen, 2 davon im unteren Teil etwas positiv. Mit der starken Wachstumsförderung geringer Konzentrationen von 3-Indolylessigsäure und mit ihrem basipetalen Transport hängt es zusammen, daß die negativen Krümmungen in großen Bogen erfolgen. Auch die bei höheren Konzentrationen auftretenden positiven Krümmungen erfolgen meist in großen Bogen; wahrscheinlich kommt dann noch soviel 3-Indolylessigsäure auf die Gegenseite der Paste, daß sie dort das Wachstum fördert, während auf der Seite der Paste freigesetzte Erregungssubstanz das Wachstum hemmt. 3-Indolylessigsäure wird aber deutlich freigesetzt (Tabelle 2). Dadurch werden die positiven Krümmungen stark und bilden oft große Bogen, auch wenn sie nur am 1. Tag auftreten und am 2. Tag in negative Krümmungen umschlagen.

Der aus Tabelle 1 ersichtliche hohe Prozentsatz positiver Krümmungen und die gute Wirksamkeit an *Mimosa* lassen auf Freisetzung von Erregungssubstanz durch 3-Indolylessigsäure schließen. Bei 10 mM-Paste waren von 6 Hypokotylen am 1. Tag 6 positiv gekrümmt, am 2. Tag 2 positiv und 4 negativ. Das zeigt, daß die wachstumsfördernde Eigenwirkung der

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

3-Indolylessigsäure später in Erscheinung tritt als die Wachstumshemmung durch die freigesetzte Erregungssubstanz.

Die im Folgenden besprochenen Tryptamine haben dasselbe Indol-Ringsystem.

α-Methyltryptamin (Nr. 9 der Tabelle 1) ist an *Mimosa* wirksam und bewirkt an Hypokotylen von *Lupinus* schon in mittleren Konzentrationen reichlich positive Krümmungen. In hoher Konzentration führt es zu Schädigungen der Hypokotyle mit Braunfärbung und starken, bogenförmigen positiven Krümmungen.

Tabelle 2

Prozentsätze der an *Lupinus*-Hypokotylen bei einseitiger Einwirkung von freisetzenden Substanzen in Lanolin (15, 75 und 450 mM/l) nach 1 und 2 Tagen aufgetretenen Krümmungen (— = negative Krümmung, d. i. von der Paste weg)

Nr. in Tab. 1	Freisetzende Substanz	mM/l Substanz in der Paste					
		15		75		450	
		Tag nach Versuchsbeginn					
		1.	2.	1.	2.	1.	2.
1	Mianserin	50	80	33	33	63	38
16	L-Mandelsaures Na	86	14	50	13	75	88
17	D,L-4-Hydroxy-3-methoxymandelsaures Na	72	72	13	-13	57	29
18	Citronensaures Na	70	90	33	50	17	60
20	L-α-Aminobuttersäure	57	57	60	60	67	22
23	α-Aminoisobuttersäure	20	10	43	29	43	29
24	L-Cysteinsaures Na	84	50	80	40	45	45
25	L-α-Alanin	56	11	45	22	38	13
26	ß-Alanin	86	17	29	14	29	-14
27	Serin	40	40	57	86	10	10
28	Glycin	- 8	-17	73	-27	-30	-80
29	Taurin	63	50	57	57	60	20

5-Hydroxytryptamin-creatininsulfat (Nr. 10) hat komplexe Molekeln, wodurch es sich anders verhält als etwa 5-Hydroxytryptaminhydrogenmaleinat (Nr. 11). Bei 275 mM ist der Prozentsatz positiver Krümmungen an *Lupinus*-Hypokotylen sehr deutlich verringert. Die Befunde deuten darauf hin, daß 5-Hydroxytryptamin-creatininsulfat Erregungssubstanz freisetzt und bei höherer Konzentration auch 3-Indolylessigsäure. Vielleicht hängt letzteres wie auch die hohe Wirksamkeit in den tierischen Testen (Spalte 6—8) mit den komplexen Molekeln zusammen.

5-Hydroxytryptamin-hydrogenmaleinat (Tabelle 1, Nr. 11) wirkt an *Lupinus*-Hypocotylen in 75 mM-Paste ähnlich wie die eben besprochene Substanz Nr. 10 (Spalte 2), mit 275 mM-Paste (Spalte 3) tritt aber eine Zunahme positiver Krümmungen auf.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Tryptamin-hydrochlorid (Nr. 12) ist unter den von uns untersuchten Substanzen die einzige, die in 15 mM- und 75 mM-Paste an *Lupinus*-Keimlingen überwiegend negative Krümmungen hervorruft. Wir halten es für wahrscheinlich, daß in der Pflanze aus einem Teil des aufgenommenen Tryptamins 3-Indolylessigsäure entsteht und die negativen Krümmungen erzeugt. Übersteigt die Tryptamin-Konzentration in der Paste 275 mM, so treten reichlich positive Krümmungen auf (Spalte 3 und 4), offenbar überwiegt die Wirkung der durch Tryptamin freigesetzten Erregungssubstanz weitgehend.

5-Methoxy-N,N-dimethyltryptamin (Substanz Nr. 13) ist ein dem Bufotenin (5-Hydroxy-N, N-dimethyltryptamin) chemisch ähnliches Indol. Auf Grund seiner Wirksamkeit an *Lupinus* (Spalte 1, 2 und 4) und *Mimosa* (Spalte 5 der Tabelle 1) kann man, wie bei allen schon besprochen Tryptaminen, Freisetzung von Erregungssubstanz annehmen. In 450 mM-Paste wirkt 5-Methoxy-N, N-dimethyltryptamin schädigend (Spalte 4).

Die im Folgenden besprochenen Substanzen haben nur einen Ring.

2,3,5-Trijodbenzoesäure (Substanz Nr. 14) haben wir untersucht, weil sie nach Jacobs & Hertel 1978 den Auxintransport hemmt, in 0,006 mM Konzentration schon beträchtlich. An Hypokotylen von *Lupinus* bewirkt sie in 15 und 75 mM-Paste sehr starke positive Krümmungen, die vielfach zur Schlingenbildung nach der Pastenseite führen. Diese beruht auf Schädigung von Zellen, die sich dabei braun verfärben. Besonders bei 75 mM Paste reichen sie bis zum Zentralzylinder. Bei 2 mM-Paste waren noch 50% der Keimlinge positiv gekrümmt, an den stärker gekrümmten waren noch die oberflächlichen Zellen geschädigt. Die aus Tabelle 1, Spalte 5—8 ersichtlichen starken Wirkungen an *Mimosa* und in den tierischen Testen könnten auf einem der Zellschädigung ähnlicher Angriff auf die Trägersubstanzen der freizusetzenden Erregungssubstanz bzw. der Überträgersubstanzen beruhen.

Gentisinsaures Na (= 2,5-dihydroxybenzoesaures Na, Nr. 15) hat in allen unseren Testen nur geringe freisetzende Wirkungen. An Hypokotylen von *Lupinus* nimmt der Prozentsatz positiver Krümmungen zu und erreicht erst bei 450 mM einen hohen Wert.

Bei allen im folgenden besprochenen Substanzen (Nr. 16ff, Strukturformeln vgl. Abb. 1) nehmen die positiven Krümmungen der *Lupinus*-Hypokotyle mit zunehmender Konzentration in der Paste ab und vielfach sind am 2. Tag weniger positive Krümmungen vorhanden. Oft treten besonders am 2. Tag negative Krümmungen auf, die in einzelnen Fällen überwiegen, so daß in Tabelle 2 negative Zahlen erscheinen. Aus den Angaben in den Tabellen 1 und 2 für diese Substanzen kann man schließen, daß sie nicht nur Erregunssubstanz, sondern auch 3-Indolylessigsäure freisetzen, besonders letztere in verschiedenem Ausmaß. Wir erwähnen bei den einzelnen Substanzen nur mehr Abweichungen von diesem typischen Verhalten.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

L-Mandelsaures Na und D,L-4-hydroxy-3-methoxymandelsaures Na (Substanz Nr. 16 und 17) sind typische Beispiele für das eben beschriebene Verhalten, wie Tabelle 1 und 2 zeigen. Bei 450 mM-Paste traten mit beiden Substanzen Braunverfärbungen auf; die Zunahme positiver Krümmungen bei dieser Konzentration dürfte durch Zellschädigungen bedingt sein. Bei D,L-4-hydroxy-3-methoxymandelsaurem Na waren bei 450 mM-Paste am 2. Tag die positiv gekrümmten Keimlinge stark gekrümmt, einer davon halb eingerollt, die Zellschädigung war hier offenbar besonders stark.

Der Prozentsatz der durch citronensaures Na (Nr. 18, Tabelle 1) ausgelösten positiven Krümmungen nimmt, wie bei den anderen Substanzen, mit zunehmender Konzentration der Substanz in der Paste ab. Aber abweichend von den anderen Substanzen sind die Werte am 1. Tag bei allen Konzentrationen niedriger als am 2. Tag (vgl. Tabelle 2). Negative Krümmung trat nur bei 450 mM-Paste einmal unter 6 Keimlingen auf. Wie Abb. 1 zeigt, hat Citronensäure eine alkoholische Hydroxylgruppe in ähnlicher Stellung wie Serin. Diese beiden Substanzen verhalten sich auch ähnlich.

L-Glutaminsaures Na (Substanz Nr. 19) bewirkt an *Lupinus*- Hypokotylen, entsprechend seiner guten Wirksamkeit an Mimosa, schon in 15 mM-Paste reichlich positive Krümmungen (Spalte 5 bzw. 1, 2 und 4). Aus den Angaben in den Tabellen 1 und 2 ist zu schließen, daß es Erregungssubstanz und 3-Indolylessigsäure reichlich freisetzt.

L-α-Aminobuttersäure (Substanz 20, Tabelle 1) ist an *Mimosa* und bei der Auslösung positiver Krümmungen an *Lupinus*-Hypokotylen in 15 mM-Paste etwas weniger wirksam als die beiden vorangeführten Substanzen Nr. 18 und Nr. 19. Aus den Tabellen 1 und 2 kann man schließen, daß L-α-Aminobuttersäure Erregungssubstanz und 3-Indolylessigsäure freisetzt.

α-Aminoisobuttersäure (Nr. 23, Tabelle 1) bewirkt bei *Mimosa* erst in sehr hoher Konzentration Blattbewegungen (Spalte 5) und dementsprechend löst sie in 15 mM-Paste an *Lupinus*-Hypokotylen sehr wenig positive Krümmungen aus. Aus den in den Tabellen 1 und 2 wiedergegebenen Befunden kann man schließen, daß α-Aminoisobuttersäure nur sehr wenig Erregungssubstanz freisetzt 3-Indolylessigsäure wird aber wirksam freigesetzt, Tabelle 2.

L-Cysteinsaures Na (Substanz Nr. 24) ist in allen unseren Testen sehr gut wirksam. Nach den Tabellen 1 und 2 zeigt es das typische Verhalten der Substanzen, die Erregungssubstanz und 3-Indolylessigsäure gut freisetzen.

α-Alanin und β-Alanin (Nr. 25 und 26) verhalten sich in unseren Testen sehr ähnlich. Nach Tabelle 2 kann für beide eine sehr ausgiebige Freisetzung von 3-Indolylessigsäure annehmen, bei keiner anderen Substanz sind am 2. Tag die Abnahmen positiver und die Zunahmen negativer Krümmungen der *Lupinus* Hypokotyle bei allen Konzentrationen so stark. Aus Tabelle 1 und 2 kann man schließen, daß β-Alanin sowohl bezüglich Freisetzung

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

von Erregungssubstanz als auch von 3-Indolylessigsäure die wirksamere von beiden Substanzen ist.

L-Serin (Nr. 27) löst schon in geringer Konzentration bei *Mimosa* Blattbewegungen aus. Seine Wirkung an *Lupinus* Hypokotylen ist aus den Tabellen 1 und 2 ersichtlich. Serin verhält sich insofern ähnlich wie Citronensäure als es am 2. Tag nie weniger und mitunter mehr positive Krümmungen bewirkt als am 1. Tag. Negative Krümmungen haben wir nur bei 450-mM Paste am 1. und am 2. Tag beobachtet. In einem in den Tabellen nicht enthaltenen Versuch mit 450 mM-Paste waren am 1. Tag 55% der Keimlinge positiv gekrümmt. Einzelne negative Krümmungen scheinen bei Citronensäure und bei L-Serin nur in Versuchen mit 450 mM-Paste, die wenig positive Krümmungen haben, aufzutreten.

Glycin (Substanz Nr. 28) ist unter den von uns untersuchten freisetzenden Substanzen an *Mimosa* am wenigsten wirksam (Tabelle 1, Spalte 5). Dementsprechend hat es an *Lupinus*-Hypocotylen nur in 75 mM-Paste positive Krümmungen bewirkt (Spalte 2) und nur am 1. Tag keine negativen; am 2. Tag traten, wie Tabelle 2 zeigt, überwiegend negative Krümmungen auf und bei 15 und 450 mM-Paste ausschließlich negative. Glycin ist demnach bei der Freisetzung von Erregungssubstanz nur sehr wenig, bei der von 3-Indolylessigsäure aber gut wirksam.

Taurin (Substanz Nr. 29) bewirkt bei *Mimosa* erst in höheren Konzentrationen Blattbewegungen. An Hypokotylen von *Lupinus* wirkt Taurin, wie die Tabellen 1 und 2 zeigen, ganz so wie die meisten Substanzen, die Erregungssubstanz und 3-Indolylessigsäure freisetzen.

Schlußbetrachtungen

Substanzen, von denen nach Literaturangaben (Fitting 1930, Umrath, Thaler & Steiner 1978, Umrath 1979) angenommen werden konnte, daß sie bei Pflanzen Erregungssubstanz und bei Tieren Überträgersubstanzen freisetzen, haben an *Mimosa pudica* Blattbewegungen ausgelöst, offenbar durch Freisetzung von Erregungssubstanz. An Hypokotylen von *Lupinus* haben sie positive Wachstumskrümmungen bewirkt, was als Freisetzung von Erregungssubstanz gedeutet wird. Nach Soltys, Umrath & Umrath 1938 hemmt die Erregungssubstanz das Wachstum bei suboptimaler Auxinkonzentration. Für die Richtigkeit dieser Deutung spricht die aus Abb. 1 ersichtliche, starke negative Korrelation zwischen dem Logarithmus der zur Bewegungsauslösung bei Mimosa notwendigen Substanzkonzentrationen und den Prozentsätzen positiver Krümmungen von *Lupinus*-Keimlingen bei 15 mM Substanz in der Paste. Der Korrelationskoeffizient ist −0,7, die Wahrscheinlichkeit t_0 für das Bestehen einer Korrelation ist größer als 0,999.

Für einen Teil der jetzt von uns untersuchten Substanzen haben Umrath, Thaler & Steiner 1978, 1979 gezeigt, daß sie an *Mimosa*

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

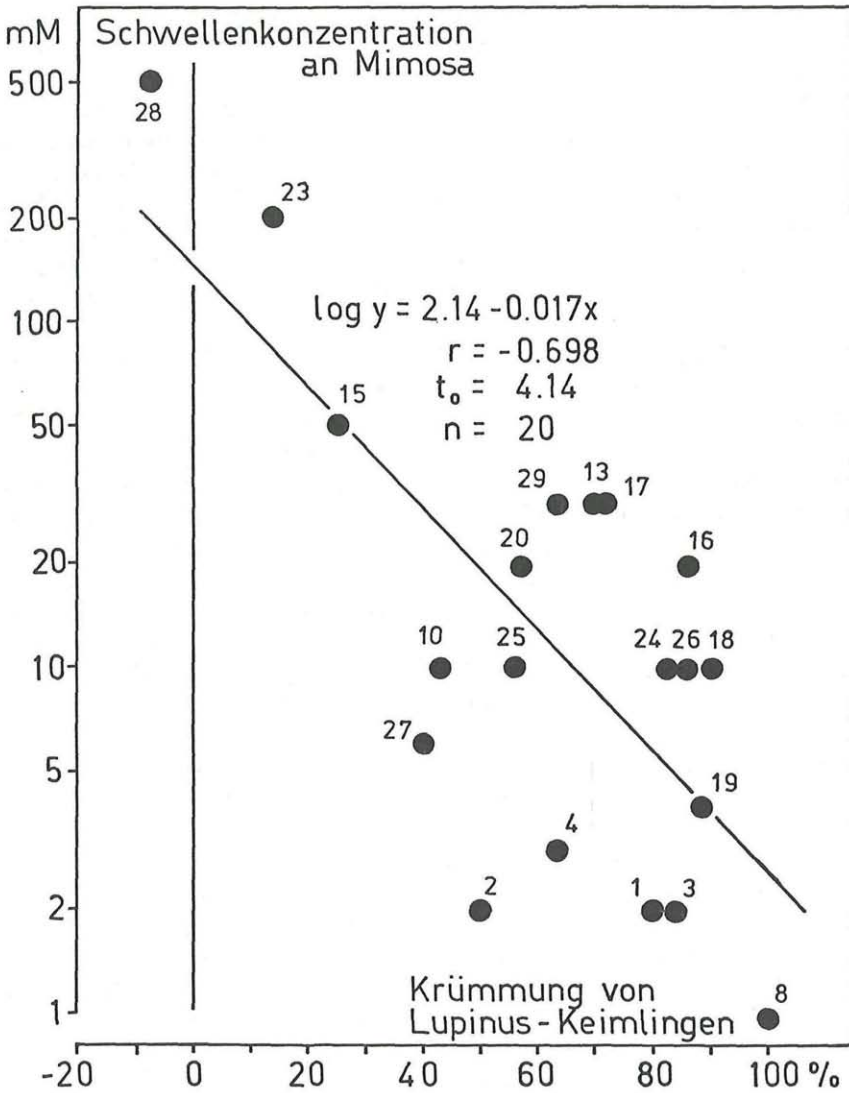

Abb. 1. Korrelation zwischen der für die Auslösung von Blattbewegungen an *Mimosa pudica* erforderlichen Schwellenkonzentrationen (Ordinate, logarithmischer Maßstab) und dem Prozentsatz positiver Krümmungen von *Lupinus*-Hypokotytylen bei einseitiger Einwirkung von 15 mM/l Substanz in Lanolinpaste (Abszisse). r = Korrelationskoeffizient, t_0 3 Signifikanz des Bestehens einer Korrelation. Die den Punkten beigesetzten Zahlen verweisen auf die in Tabelle 1 angeführten Substanzen, denen die Punkte jeweils zugeordnet sind

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Bewegungsreaktionen auslösen und daß sie, offenbar durch Freisetzung von Erregungssubstanz, zur Verengung von Spaltöffnungen führen. Damit sind für diese freisetzenden Substanzen drei Wirkungen der Erregungssubstanz nachgewiesen, die Auslösung von Blattbewegungen bei *Mimosa*, die Verengung von Spaltöffnungen und die Wachstumshemmung, die bei einseitiger Einwirkung der Substanzen zu positiven Krümmungen führt.

Wenn wir auf unsere jetzigen Befunde zurückkommen, so ist zunächst darauf hinzuweisen, daß die notwendigen Konzentrationen für die Auslösung von Blattbewegungen an *Mimosa* und für die Schmerzreaktion an der mit Eserin behandelten Cornea der Augen junger Meerschweinchen im Durchschnitt sehr ähnlich sind, wie ein Vergleich der Spalten 5 und 6 der Tabelle 1 zeigt. In beiden Fällen müssen die Substanzen aus wäßriger Lösung in Zellen eindringen. Etwas höhere Konzentrationen sind für die Auslösung von Krümmungen an *Lupinus*-Hypokotylen erforderlich (Spalten 1—4) wobei die Substanzen in Lanolin-Wasser-Paste geboten werden, die Cuticula passieren und dann in Zellen eindringen müssen. Zur Freisetzung gelöster, gebundener Überträgersubstanzen in tierischen Extrakten, wobei die freisetzenden Substanzen keine Membran passieren müssen, genügen viel geringere Konzentrationen, was ein Vergleich der Spalten 7 und 8 mit dem übrigen Teil der Tabelle 1 zeigt.

Fitting 1930 fand als wirksamste Substanzen an *Mimosa* 0,3 mM Franguloemodin und einige andere Antrachinonderivate mit 3 kondensierten Ringen. In diesem Zusammenhang ist die gute Wirksamkeit von Reserpin und der Thymoleptica Nr. 1—3 in Tabelle 1 zu erwähnen, die alle 3—5 kondensierte Ringe haben. Von den Thymoleptika nimmt Umrath an, daß sie vielfach eine freisetzende Wirkung haben, aber die Freisetzung tierischer Hemmungssubstanzen erschweren oder hemmen (Umrath 1979: 3, 1979c: 56).

Fitting 1930 fand alle von ihm untersuchten heterocyklischen Säuren unwirksam an *Mimosa*, so auch Tryptophan. Aus diesem geht bei Verlust der Carboxylgruppe das in unseren Versuchen wirksame Tryptamin hervor. Wird in diesem der die Aminogruppe tragende Kohlenstoff zum Bestandteil einer Carboxylgruppe, so entsteht die sehr wirksame 3-Indolylessigsäure. Solche Konfigurationsänderungen können also sehr viel ausmachen.

Die Erregungssubstanz der Mimosaceen wurde von Soltys, Umrath & Umrath 1938 gereinigt. Das reinste Produkt war noch in einer Verdünnung 2×10^{-9} wirksam, was bei einem wahrscheinlichen Molekulargewicht von 300 bis 450 etwa 0,000005 mM entspricht. Die Substanz war also 200.000 mal wirksamer als die wirksamste Substanz in Tabelle 1.

Umrath, Thaler & Steiner 1978 haben darauf hingewiesen, daß 3-Indolylessigsäure unter den Wirkstoffen der Pflanzen eine ähnliche Sonderstellung hat wie 5-Hydroxytryptamin unter den Überträgersubtanzen der Tiere. Der Gehalt beider unterliegt tagesperiodischen Schwankungen und beide sind in den betreffenden Reichen weit verbreitet. 3-Indolylessig-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

säure kommt bei allen Familien höherer Pflanzen vor, die Erregungssubstanzen der verschiedenen Familien der Pflanzen sind verschieden (UMRATH 1930, SOLTYS, UMRATH & UMRATH 1938). Analog kommt 5-Hydroxytryptamin bei verschiedenen Stämmen der Tiere vor, während die sonstigen Überträgersubstanzen vielfach verschieden sind (UMRATH 1979a). 3-Indolylessigsäure setzt Erregungssubstanz frei. 5-Hydroxytryptamin setzt manche Überträgersubstanzen frei und hemmt gewisse Freisetzungen anderer (UMRATH 1979a, b).

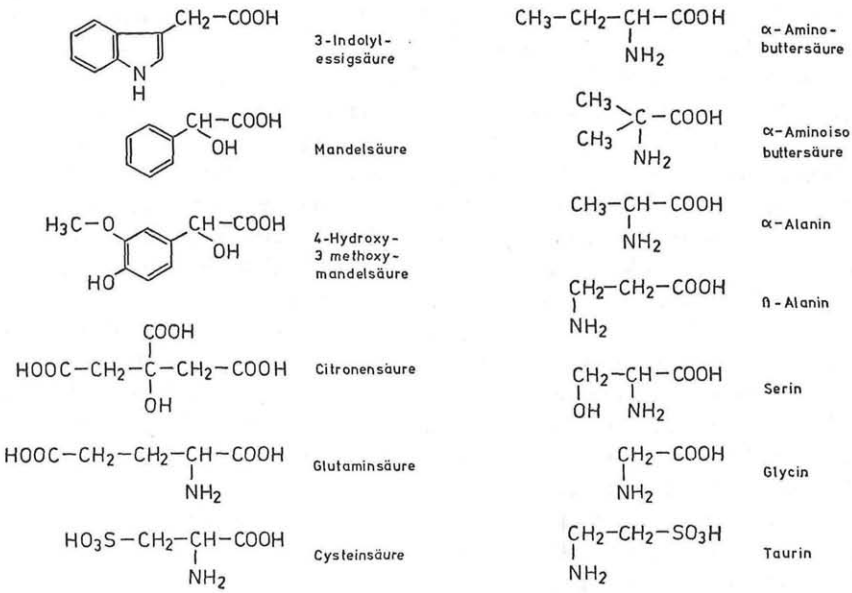

Abb. 2. Strukturformeln von 3-Indolessigsäure und einiger Substanzen, die sie freisetzen

Eine weitere Analogie ist die, daß die Überträgersubstanzen der Tiere im allgemeinen durch spezifische Fermente freigesetzt werden können, 5-Hydroxytryptamin aber nicht, sondern durch Sauerstoff. Hierüber und über die unterschiedliche Freisetzbarkeit durch Indole siehe UMRATH 1979a, Tabelle 5. Bei Pflanzen wird die Erregungssubstanz der Mimosaceen und die der Fabaceen durch fast alle von uns verwendeten freisetzenden Substanzen reichlich freigesetzt, 3-Indolylessigsäure aber nur durch einige wenige.

Die Substanzen, bei denen wir bisher eine gute Freisetzung von 3-Indolylessigsäure feststellten, finden sich in Tabelle 1 zwischen L-Mandelsäure und Glycin. Abb. 2 zeigt die Strukturformeln dieser Substanzen unter der von 3-Indolylessigsäure. Bringt man bei diesen Substanzen die rechts angeschriebene Säuregruppe mit der der 3-Indolylessigsäure zur Deckung

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

und legt die restlichen Teile aneinander, so sieht man, daß diese meistens in elektrischer Ladung und Hydrophilie gegensätzlich zu einander sind.

Ein Vergleich mit der auch aus Tabelle 1 ersichtlichen Freisetzung tierischer Überträgersubstanzen ist aufschlußreich.

Acetylcholin ist eine polare Verbindung mit dem positiven Stickstoff des Cholins und dem negativen Sauerstoff der Essigsäure. Entsprechend der Entfernung zwischen seinen polaren Gruppen ist die Freisetzung bei Verbindungen mit Kettenlängen, die 4 C-Atomen entsprechen am besten. Nach Tabelle 1 ist die wirksamste Verbindung die Cysteinsäure, die bei richtiger Länge 2 endständige Säuregruppen hat, also gegenüber dem positiven Stickstoff des Cholins eine negative Gruppe. α-Aminobuttersäure hat die optimale Länge und ihre positive Aminogruppe ist von dem positiven Stickstoff des Cholins weiter entfernt als bei der weniger wirksamen β-Aminobuttersäure. Bei der Citronensäure hat die mittlere Carboxylgruppe von der endständigen einen Abstand von 4 C-Atomen. Das hydrophile Acetylcholin wird durch Mandelsäure besser freigesetzt als durch 4-Hydroxy-3-methoxymandelsäure, der größere Hydrophilie zuzuschreiben ist. Umgekehrt wirkt bei der hydrophoben 3-Indolylessigsäure die hydrophilere 4-Hydroxy-3-methoxymandelsäure besser.

Bei der Freisetzung von γ-Guanidinobuttersäure sind aus den schon beim Acetylcholin genannten Gründen die Derivate der Buttersäure, insbesondere L-α-Aminobuttersäure, L-Cysteinsäure und L-Mandelsäure, sehr gut wirksam. Auch einige Indolamine sind sehr wirksam, am wirksamsten ist Bufotenin = 5-Hydroxy-N, N-dimethyltryptamin. Es ist in Tabelle 1 nicht enthalten, aber in Tabelle 2 bei Umrath, Thaler & Steiner 1978. Nach Umrath 1979a wirkt es sehr ähnlich wie das natürlich vorkommende, freisetzende Ferment und es ist möglicherweise der wirksame Bestandteil dieses Fermentes.

Von den besprochenen, hoch wirksamen freisetzenden Substanzen könnte man sich vorstellen, daß sie sich mit der Säuregruppe dort an der Trägersubstanz (am Substrat) anheften, wo auch die Säuregruppe der freizusetzenden Substanz liegt und daß sich ihr Rest an die freizusetzende Substanz anlagert und sie dadurch von der Trägersubstanz löst.

Gentisinsäure haben wir untersucht, weil Schildknecht 1978 ein Gentisinsäureglykosid als „Bewegungsstoff" von *Mimosa* beschreibt, ohne seine Wirksamkeit anzugeben. Tabelle 1 zeigt, daß Gentisinsäure (Nr. 15) in allen unseren Testen schwach freisetzend wirkt. Es ist nicht ausgeschlossen, daß aus ihr durch Bindung an Zucker die Erregungssubstanz der Mimosaceen entsteht. Soltys, Umrath & Umrath 1938 fanden ihr reinstes Produkt noch in 0,000005 mM Lösung an *Mimosa pudica* wirksam. Eine solche Wirksamkeit müßte Schildknecht für seine Substanz nachweisen.

An unseren *Lupinus*-Hypokotylen hat 3-Indolylessigsäure in höherer Konzentration zuerst positive Krümmungen durch freigesetzte Erregungssubstanz und, zeitlich verspätet, negative Krümmungen durch ihre Eigen-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

wirkung erzeugt. ULLRICH 1978 hat ebensolche auxinbedingte Krümmungen von Mais-Coleoptilen beschrieben. MORATH & HERTEL 1978 haben an Coleoptilen von Mais bei höheren Auxinkonzentrationen ein geringes negatives elektrisches Potential beobachtet, anschließend ein größeres positives, das bei geringen Auxinkonzentrationen allein auftrat. Es liegt nahe, das negative Potential freigesetzter Erregungssubstanz zuzuschreiben, das positive der 3-Indolylessigsäure selbst.

Die Wachstumshemmungen durch freigesetzte Erregungssubstanz lassen daran denken, daß die von FIRN & DIGBY 1977 und von WRIGHT & OSBORNE 1977 beobachteten Wachstumshemmungen an der Oberseite horizontal gelegter Pflanzenteile durch Erregungssubstanz bedingt sind. Nach UMRATH 1960 und LANG, THALER & UMRATH 1976 ist die Erregungssubstanz in horizontalen Sprossen an der Oberseite lokalisiert, denn ihre morphologischen Auswirkungen, vor allem die Verdickung tangentialer Zellwände, treten in horizontalen Sprossen ausschließlich an der Oberseite auf.

Schrifttum

FIRN R. & DIGBY J. 1977. The role of the peripheral cell layers in the geotropic curvature of sunflower hypocotyls; a new model of shoot geotropism. — Aust. J. Plant Physiol. 4: 337—347.

FITTING H. 1930. Untersuchungen über endogene Chemonastie bei *Mimosa pudica*. — Jb. wiss. Bot. 72: 700—775.

JACOBS M. & HERTEL R. 1978. Auxin binding to subcellular fractions from *Cucurbita* hypocotyls: in vitro evidence for an auxin transport carrier. — Planta (Berl.) 142: 1—10.

LANG Ch., THALER I. & UMRATH K. 1976. Beitrag zum Plagiotropismus von *Veronica filiformis*. — Phyton (Austria) 17: 281—286.

MORATH M. & HERTEL R. 1978. Lateral electrical potential following asymmetric auxin application to maize coleoptiles. — Planta (Berl.) 140: 31—35.

SCHILDKNECHT H. 1978. Über die Chemie der Sinnpflanze *Mimosa pudica* L. — Sitz. Ber. Heidelb. Akad. Wiss. Math.-naturwiss. Kl., Jg. 1978, 6. Abh.

SOLTYS A., UMRATH K. & UMRATH Ch. 1938. Über Erregungssubstanz, Wuchsstoff und Wachstum. — Protoplasma 31: 454—480.

ULLRICH C.-H. 1978. Continuous measurement of initial curvature of maize coleoptiles induced by lateral auxin application. — Planta (Berl.) 140: 201—211.

UMRATH K. 1930. Über Erregungssubstanzen. — Jb. wiss. Bot. 73: 705—719.

— 1960. Über die Rolle der Erregungssubstanz beim Geotropismus der Sprosse. — Ber. dtsch. bot. Ges. 73: 380—385.

— 1979. Nervöse Überträgersubstanzen und ihre Freisetzung. Drei zoophysiologische Beiträge. — Naturwiss. Verein für Steiermark, Graz.

— 1979a. Alanyl-Dipeptide als nervöse Überträgersubstanzen und die Freisetzung der Dipeptide unter den Überträgersubstanzen in Extrakten und im lebenden Tier. In UMRATH 1979: 5—37.

— 1979b. Freies und gebundenes 5-Hydroxytryptamin und ihre unterschiedlichen Wirkungen. In UMRATH 1979: 38—48.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

UNRATH K. 1979c. Die Freisetzung von Noradrenalin. In UMRATH 1979 :49—60.

— , THALER I. & STEINER G. 1978. Die Freisetzung von Erregungssubstanz bei Pflanzen durch Stoffe, die bei Tieren Überträgersubstanzen freisetzen. — Phyton (Austria) 19: 13—25.

— — — 1979. Die Wirkung von 3-Indolylessigsäure auf die Spaltöffnungsweite. — Phyton (Austria) 19: 253—258.

WRIGHT M. & OSBORNE D. J. 1977. Gravity-regulation of cell elongation in nodes of the grass *Echinochloa colonum*. — Biochem. Physiol. Pflanzen 171: 479—492.

Anmerkung bei der Korrektur: In Tabelle 1 hat der Wert für α-Alanin (Substanz Nr. 25, Spalte 4) 38 (statt 48) zu lauten.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1980

Band/Volume: 20_3_4

Autor(en)/Author(s): Umrath Karl, Thaler Irmtraud

Artikel/Article: Auslösung von Blattbewegungen bei Mimosa und von Krümmungen von Lupinus-Hypokotylen, gedeutet durch Freisetzung von Erregersubstanz und Auxin. 333-348